*ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 28, 3, 1994*

*УДК 576.895.773.4*

© 1994

# ОБРАЗОВАНИЕ ЖЕЛТЫХ ТЕЛ В ЯИЧНИКАХ ОСЕННЕЙ ЖИГАЛКИ STOMOXYS CALCITRANS (MUSCIDAE)

**С. А. Филимонова**

На основе применения методов световой и электронной микроскопии подробно рассмотрен механизм образования желтых тел в яичниках осенней жигалки после откладки яиц. Показано, что формирование желтого тела занимает около 2 сут, причем режим питания мух не влияет на скорость его образования и характер окраски. У многократно клавших мух на гистологических препаратах удается различать относительно старые и новые желтые тела. С увеличением числа кладок различия между ними все более сглаживаются, а сами они сливаются в единое более крупное образование. В связи с этим точный подсчет числа кладок по этому признаку принципиально невозможен. Для проведения приблизительной оценки физиологического возраста самок предложено учитывать все возможные комбинации таких структур, как яйцевые мешки (расширения), старые и новые желтые тела.

В настоящее время для определения физиологического возраста самок кровососущих двукрылых наиболее распространенным остается метод подсчета остаточных тел, которые формируются в яичниках самок в ходе гонотрофического цикла. Уже в первых работах по этому вопросу было предложено различать в природных популяциях осенней жигалки *Stomoxys calcitrans* L. три категории самок: молодых неклавших, однократно и многократно клавших имаго (Кузина, 1942; 1950). Однако дальнейшей детализации этой схемы достичь не удалось, несмотря на относительное обилие работ по этому и другим видам мух (Tyndale-Biscoe, Hughes, 1968; Kulshrestha, 1969; Vogt e. a., 1974; Charlwood, Lopes, 1980; Moon, Kaya, 1981). Некоторые авторы, правда, указывают на возможность различать на вскрытии дважды и трижды клавших мух (Jones, 1971; Charlwood, Lopes, 1980), но им противоречат данные других исследователей (Tyndale-Biscoe, Hughes, 1968; Vogt e. a., 1974; Moon, Kaya, 1981). Подобные расхождения в литературе можно наблюдать и в отношении других групп насекомых (Tyndale-Biscoe, 1984). На наш взгляд, это связано с недостаточной изученностью механизма формирования остаточного тела. Отсюда берет начало и определенная путаница в применяемых терминах. Так, в последнем обзоре, посвященном этому вопросу (Tyndale-Biscoe, 1984), указано, что для оценки физиологического возраста могут быть использованы фолликулярные остатки (follicular relics), желтые тела (yellow bodies) и фолликулярные расширения (follicular dilatations). При этом первые два термина являются по существу синонимами, а фолликулярные расширения представляют собой начальный этап образования остаточного тела и потому не могут применяться в качестве основного критерия для определения числа проделанных кладок.

В настоящей работе использован термин «желтое тело», как наиболее употребимый в энтомологической литературе, хотя степень пигментации этого образования может весьма различаться у разных самок.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Мух *Stomoxys calcitrans* L. отлавливали в коровнике на ст. Лигово (С.-Петербург) в течение августа и сентябре 1991 и 1992 гг. Все опыты проводили в лаборатории в условиях 80—90%-ной влажности при температуре 21—24°. Опытных мух содержали по одной в бакпечатках, закрытых сверху мельничным газом. Кормление проводили на ватных тампонах, смоченных дефибринированной кровью человека дважды в сутки.

Для световой микроскопии отпрепарованные яичники мух фиксировали в охлажденной смеси спирт—формалин—уксусная кислота в соотношении 9 : 3 : 1. Парафиновые срезы окрашивали азур-эозином, а также проводили ШИК-реакцию с докраской ядер гематоксилином Эрлиха. Для электронной микроскопии фиксировали как целые отпрепарованные яичники, так и отдельные овариолы. Фиксацию проводили в 2.5%-ном глутаральдегиде на 0.1 М фосфатном буфере с последующей дофиксацией в 1%-ном $OsO_4$. Материал заливали в смесь смол эпон-812 и просматривали срезы на ЭМ TESLA BS-500.

Были проведены следующие опыты. Для определения времени и способа образования желтых тел фиксировали по 3—4 самки в разные промежутки времени после очередной кладки (от 30 мин до 3 сут). Часть мух после откладки яиц содержали без питания, а другую часть кормили, как было описано выше. Для определения взаимоотношения желтых тел от двух и более последовательных кладок фиксировали по 5 самок после 2 и 3 кладок, полученных в лаборатории. Варьировали время от момента последней кладки до фиксации в пределах от 1 ч до 3 сут.

Были фиксированы также только что вылетевшие самки из грунта с личинками, отобранного в том же коровнике. Для определения возможного максимального количества желтых тел и для выявления резорбции фолликулов просматривали гистологические препараты, изготовленные на основе массового материала, отловленного в коровнике. Всего было просмотрено около 60 самок.[1]

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Строение яичников мух *S. calcitrans* типично для двукрылых. Под общей оболочкой яичника расположены отдельные яйцевые трубочки, или овариолы, открывающиеся в общий проток — латеральный яйцевод. Та часть латерального яйцевода, которая находится внутри яичника, у мух называется внутренним яйцеводом, что соответствует каликсу комаров и некоторых других двукрылых. Латеральные или парные яйцеводы обоих яичников объединяются затем в один непарный яйцевод.

В пределах каждой яйцевой трубочки принято различать концевую нить, посредством которой она прикрепляется к оболочке яичника, гермарий, вителлярий и концевую ножку — короткий проток, соединяющий ее с внутренним яйцеводом (Линева, 1953) (рис. 1).

Особенностью *S. calcitrans*, как известно, является то, что у клавших

---

[1] Автор глубоко признателен Л. А. Григорьевой за консультации и отдельные экземпляры *S. calcitrans*, любезно предоставленные ею для фиксации из лабораторной культуры.

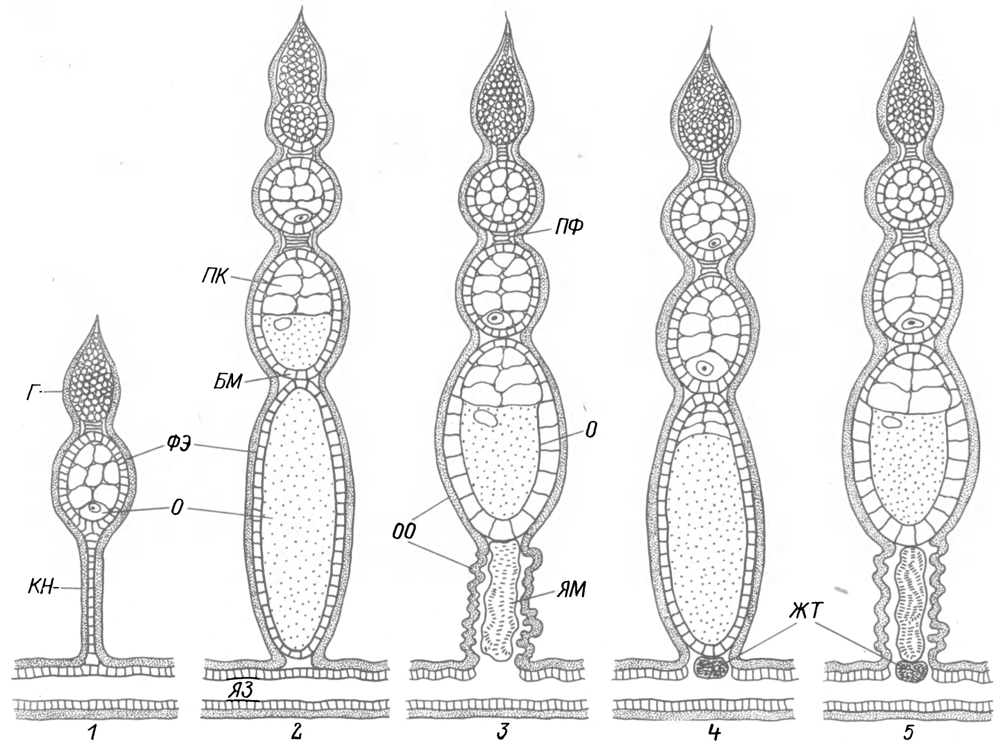

Рис. 1. Схема строения овариол у самок *S. calcitrans* разного физиологического возраста.

*1* — у молодой неклавшей самки; *2* — перед I кладкой; *3* — через 1 сут после I кладки; *4* — через 1.5 сут после I кладки; *5* — через 1 сут после II кладки; *БМ* — базальная мембрана фолликулярного эпителия; *Г* — гермарий; *ЖТ* — желтое тело; *ИФ* — интерфолликулярная ткань; *КН* — концевая ножка; *О* — ооцит; *ОО* — оболочка овариолы; *ПК* — питающие клетки; *ФЭ* — фолликулярный эпителий; *ЯВ* — яйцевод; *ЯМ* — яйцевой мешок.

Fig. 1. Scheme of ovarioles in females *S. calcitrans* of different physiological age.

самок в вителлярии развивается до 5 фолликулов одновременно (Кузина, 1950). Фолликулы разделены небольшими интерфолликулярными стебельками. У отдельных особей мы наблюдали иногда значительное удлинение интерфолликулярных стебельков, но не во всех, а лишь в некоторых овариолах. Объяснения этому явлению пока не найдено. Как правило, с ростом фолликула происходит уменьшение числа клеток интерфолликулярной ткани за счет их самолизиса, так что между последним и предпоследним фолликулами от нее совсем ничего не остается (рис. 1).

Особо следует остановиться на строении оболочки овариолы. В литературе принято различать внешнюю, соединительнотканную оболочку овариолы — tunica externa и внутреннюю — tunica prorpia, которую также еще называют интимой (Tyndale-Biscoe, 1984). По нашим данным, полученным с помощью электронного микроскопа, в составе интимы клеточные элементы отсутствуют (рис. 2, *1*; см. вкл.). По существу она представляет собой базальную мембрану фолликулярного эпителия и состоит из коротких плотно упакованных волокон. Там, где между фолликулами нет интерфолликулярной ткани, легко заметить, что обе базальные мембраны соседних фолликулов примыкают друг к другу вплотную, в то время как истинная оболочка овариолы в область контакта не заходит. Таким образом, интиму следует рассматривать скорее как оболочку фолликула, а не всей овариолы в целом. Единственная соединительнотканная оболочка овариолы содержит отдельные мышечные клетки, нервные волокна и трахеолы. Базально она переходит на стенки внутреннего яйцевода, и, таким образом, именно эта соединительнотканная оболочка овариолы образует тот канал, который связывает яйцевую трубочку с яйцеводом, т. е. концевую ножку (pedicel) (рис. 1). У неклавших самок внутри концевой ножки имеется тяж клеток, идущий от последнего фолликула к стенке внутреннего яйцевода (рис. 1, *1*). Он напоминает сильно увеличенный интерфолликулярный стебелек и состоит из клеток сходного морфологического типа. Иногда данный клеточный тяж также называют концевой ножкой (Lehane, Laurence, 1978; Ланге, Соколова, 1989), что, на наш взгляд, крайне неудачно, так как внутри него никогда не образуется полости, и он не может служить каналом для выведения зрелого яйца.

По мере роста базального ооцита концевой тяж клеток подобно интерфолликулярным стебелькам все более сокращается в размерах и наконец исчезает бесследно. При этом последний, самый зрелый фолликул, достигая своих окончательных размеров, занимает все пространство концевой ножки, так что она перестает быть морфологически выражена (рис. 1, *2*). При выталкивании из овариолы зрелого яйца оболочка ее сокращается и после эвакуации яйца остается в таком состоянии, в результате чего в области концевой ножки образуются многочисленные складки. При этом внутри концевой ножки остается так называемый яйцевой мешок, стенки которого образованы фолликулярным эпителием вышедшего яйца (рис. 1, *3*; 3, *1*; см. вкл.). Последний представлен живыми клетками кубической или столбчатой формы, на поверхности которых сохраняется правильный ряд микроворсинок (рис. 2, *2*).

Процессы дегенерации фолликулярного эпителия начинаются, вероятно, сразу после выхода яйца из овариолы: уже через 30 мин в яйцевом мешке заметны отдельные клетки с пикнотическими ядрами и темной цитоплазмой. Такие клетки могут слущиваться в просвет яйцевого мешка, а могут подвергаться самолизису прямо в составе эпителиального пласта. У всех остальных клеток ядра очень скоро приобретают лопастную форму. В области аппарата Гольджи заметно образование мелких пузырьков средней электронной плотности и светлых вакуолей диаметром до 0.5 мкм. Преобладают полисомы и мелкие цистерны шероховатой эндоплазматической сети, их внутреннее пространство расширено.

Через 10—15 ч после яйцекладки единство эпителиального пласта местами нарушается, в его составе обнаруживаются скопления дегенерирующих клеток, а также просветы, заполненные продуктами лизиса. Узкая полость яйцевого мешка также содержит дегенерирующую клеточную массу. В сохранившихся живых клетках происходит активная фрагментация ядер. В цитоплазме клеток часто можно встретить небольшие аутофагические вакуоли с фрагментами шероховатой эндоплазматической сети и скоплением рибосом. Увеличивается общее количество лизосом, появляются типичные слоистые тела разной электронной плотности (рис. 2, *3*).

Через 1 сут после яйцекладки яйцевой мешок сокращается почти вдвое по сравнению со своими первоначальными размерами, но все еще представляет собой вытянутое образование, которое при вскрытии мух легко отличимо от желтого тела. Через 1.5—2 сут яйцевой мешок превращается в небольшое округлое образование, которое можно рассматривать уже как желтое тело (рис. 1, *4*; 3, *2*). Как и прежде, его окружает базальная мембрана фолликулярного эпителия, а оболочка овариолы отстает от нее, так как образует в этом месте многочисленные складки. Основу вновь сформированного желтого тела составляет бесструктурный материал средней электронной плотности, чередующийся с полостями разного размера и формы. В центральной части не удается различить даже фрагментов клеток за исключением редких остаточных тел и пикнотических ядер. Оставшиеся живые клетки располагаются по периферии желтого тела, и ядра их сохраняют нормальный вид более чем через 3 сут после яйцекладки.

Обращает на себя внимание тот факт, что новое желтое тело, как правило, не содержит типичного желтоватого пигмента. В то же время для него характерно обилие ШИК-положительных включений. На электронограммах им, видимо, соответствуют крупные (до 1.5 мкм) плотные остаточные тела. Судя по размерам, можно предположить, что они являются завершающей стадией развития аутофагических вакуолей. В дальнейшем число ШИК-положительных включений в желтом теле заметно снижается и через 3 сут после яйцекладки оно приобретает свой типичный желтый цвет за счет отложений липидного пигмента, который накапливается в цитоплазме живых клеток периферийного слоя еще до их окончательной гибели. Следует отметить, что у старых самок осенней жигалки, которые проделали более двух кладок, мы наблюдали включения желтого пигмента в эпителии яйцевого мешка уже через 1 ч после яйцекладки. В результате их желтые тела накапливают большее количество пигмента и имеют поэтому более интенсивную окраску. Однако можно с уверенностью сказать, что желтые тела от первой кладки никогда не содержат этот пигмент в заметном количестве.

Опыты показали, что режим питания мух никак не влияет на скорость и характер формирования желтого тела. Если муха после кладки не получает кровяного питания, резорбция яйцевого мешка идет без изменений, но общая картина яйцевой трубочки при этом иная. Так как базальный ооцит не растет, а желтое тело через 2—2.5 сут опускается к основанию овариолы, пространство концевой ножки между ними остается пустым.

В естественных условиях мухи не прерывают регулярного питания, и за время формирования желтого тела происходит развитие следующей порции яиц. При этом зрелое яйцо всегда лежит вплотную к желтому телу предыдущей кладки, а после его эвакуации к нему примыкает новый яйцевой мешок (рис. 1, *5*; 3, *3*). У самок, готовых к 3-й кладке, под последним зрелым фолликулом видны примыкающие друг к другу два желтых тела, разделенные базальной мембраной. В это время их легко идентифицировать друг от друга по обилию ШИК-положительных включений в более молодом желтом теле. После 3—4 кладок первые желтые тела полностью сливаются между собой и образуют единую компактную массу во внутреннем яйцеводе у выхода из овариолы (рис. 3, *4*). Таким образом, у многократно клавших самок можно говорить только об увеличении размеров и усилении пигментации желтого тела, а степень компактизации яйцевого мешка дает представление о времени, прошедшем с момента последней кладки.

Анализ препаратов массового материала, полученного из коровника, выявил отдельные редкие случаи нарушения развития фолликулов (4 случая из 48). Почти все они характеризовались ярко выраженными дегенеративными изменениями, затрагивающими в том числе и фолликулярный эпителий, что не соответствует нашим представлениям о резорбции ооцитов. Очевидно, что подобные редкие случаи не могут оказывать существенного влияния на общую картину организации яичников у самок разного физиологического возраста, и при анализе этого показателя в природных популяциях их можно не принимать во внимание. В то же время не исключено, что резорбция фолликулов у осенней жигалки может иметь место в каких-либо экстремальных условиях, поэтому вопрос этот требует своего дальнейшего рассмотрения в условиях эксперимента.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет с уверенностью сказать, что желтые тела у самок *S. calcitrans* являются производными яйцевых мешков, которые остаются в концевой ножке овариолы после откладки очередной порции яиц. Оболочка овариолы не принимает непосредственного участия в этом процессе. Интима, которую часто называют внутренней оболочкой овариолы, представляет собой базальную мембрану фолликулярного эпителия и в случае его дегенерации частично лизируется, а оставшаяся часть окружает вновь образованное желтое тело. Дегенерация фолликулярного эпителия происходит путем самолизиса клеток и сопровождается образованием крупных аутофагических вакуолей и далее остаточных тел, которые на световом уровне выглядят как крупные ШИК-положительные включения. Формирование желтого пигмента происходит внутри клеток фолликулярного эпителия. В случае первых двух кладок оно начинается, когда желтое тело уже сформировано, а у более старых мух эти два процесса могут идти параллельно.

Приведенные данные свидетельствуют о принципиальной невозможности точного количественного учета желтых тел в яичниках *S. calcitrans*, так как с момента своего возникновения желтые тела последовательных кладок примыкают друг к другу вплотную, а со временем сливаются в единое более крупное образование. Обычно это происходит тогда, когда муха проделала 3 кладки. Это положение, вероятно, справедливо для многих насекомых. Так, согласно литературным данным, у большинства видов по остаткам в овариолах легко различимы именно первые 3 кладки, после чего происходит обычно слияние уже имеющихся желтых тел (Tyndale-Biscoe, 1984; Ланге, Соколова, 1989).

Гистологические препараты позволяют различать желтые тела разной степени зрелости. Экспериментально показано, что самки осенней жигалки в среднем совершают не более 4 кладок (Charlwood, Lopes, 1980; Григорьева, 1992). Поэтому определение физиологического возраста у них можно проводить по следующей схеме.

I. Если имеется расширение (т. е. яйцевой мешок) и при этом а) есть еще непигментированное желтое тело, то муха проделала 2 кладки; б) если есть еще хорошо пигментированное желтое тело, то у нее было не менее 3 кладок (т. е. 3 или 4).

II. Если расширения нет, то кладка была более чем 1.5 сут назад. Тогда а) если есть непигментированное желтое тело, то муха проделала только одну кладку; б) если есть пигментированное желтое тело, то это дважды или трижды клавшая самка. При этом у дважды клавшей мухи новое желтое тело будет легко отличимо от предыдущего по присутствию ШИК-положительных гранул. У трижды клавшей самки эти различия менее вероятны.

### Список литературы

Григорьева Л. А. К вопросу о гонотрофии у Stomoxys calcitrans L. (Diptera) // Тез. докл. науч. конф. профессор.-преподавател. состава, научных сотрудников и аспирантов СПВИ «Актуальные проблемы ветеринарии». СПб., 1992. С. 13—14.

Кузина О. С. О гонотрофических взаимоотношениях у жигалок (Stomoxys calcitrans L. и Haematobia stimulans) // Мед. паразитол. 1942. Т. 11, вып. 3. С. 70—78.

Кузина О. С. Сравнительно-паразитологические и экологические наблюдения над жигалками Stomoxys calcitrans, Haematobia stimulans и Zyperosia irritans // Эктопаразиты. 1950. Вып. 2. С. 139—165.

Ланге А. Б., Соколова М. И. Морфофункциональные изменения овариол кровососущих комаров (Diptera : Culicidae) в процессе оогенеза. Сообщ. 1. Нормальный оогенез // Мед. паразитол. 1989. Т. 1. С. 22—26.

Линева В. А. Методика определения физиологического возраста самок Musca domestica // Мед. паразитол. 1953. Т. 22, вып. 1. С. 69—75.

Charlwood J. D., Lopes J. The age structure and biting behaviour of Stomoxys calcitrans (L.) (Diptera: Muscidae) from Manaus, Brazil // Bull. ent. Res. 1980. Vol. 70. P. 549—555.

Jones M. G. Observations on changes in the female reproductive system of the weat bulb fly Leptohylemia coarctata (Fall.) // Bull. ent. Res. 1971. Vol. 61. P. 55—68.

Kulshrestha S. K. Observations on the ovulation and oviposition with reference to corpus luteum formation in Musca domestica nebulo Fabr. (Muscidae: Diptera) // J. Natur. Hist. 1969. Vol. 3, N 4. P. 561—570.

Lehane M. J., Laurence B. R. Development of the calyx and lateral oviduct during oogenesis in Aedes aegypti // Cell. Tiss. Res. 1978. Vol. 193. P. 125—137.

Moon R. D., Kaya H. K. A comparison of methods for assesing age structure and abundance of populations of non-diapausing female Musca autumnalis (Diptera, Muscidae) // J. Med. Entomol. 1981. Vol. 18. P. 289—297.

Tyndale-Biscoe M. Age-grading methods in adult insects: a review // Bull. Entomol. Res. 1984. Vol. 74, N 3. P. 341—377.

Tyndale-Biscoe M., Hughes R. D. Changes in the female reproductive system as age indicators in the bushfly Musca vetustissima Wlk. // Bull. Ent. Res. 1968. Vol. 59. P. 129—141.

Vogt W. G., Woodburn T. L., Tyndale-Biscoe M. A method of age determination in Lucilia cuprina (Weid.) (Diptera, Calliphoridae), using cyclic changes in the female reproductive system // Bull. Entomol. Res. 1974. Vol. 64. P. 365—371.

ЗИН РАН,
Санкт-Петербург, 199034

Поступила 12.04.1993

# THE YELLOW BODY FORMATION IN THE OVARY STOMOXYS CALCITRANS (MUSCIDAE)

*S. A. Filimonova*

*Key words*: ovarian yellow body, physiological age of fly, *Stomoxys calcitrans*, Muscidae.

## SUMMARY

It has been shown by means of light and electronic microscopy, that the yellow body formation in *Stomoxys calcitrans* is connected with the autolysis of follicular epithelium and the further accumulation of its remains. It takes about 2 days and does not depend upon nutritional conditions of flies. New formed yellow bodies of the first and second gonotrophic cycle are usually colourless structures with some PAS-positive inclusions, which correspond to the large telolysosomes on ultrastructural level. They lose such inclusions later and accumulate the yellow pigment in their content.

Yellow body of the last oviposition always lies in close contact with the previous one, because of the continuity of the egg development in flies. Then they are consolidated in a single mass and enlarged with successive oviposition as a big and dence body. Therefore, there is no possibility to count the exact number of ovipositions in *Stomoxys calcitrans* basing on the number of ovarian yellow bodies. So, it is proposed to take into account all possible combinations of the follicular relics, such as dilatations, new and old yellow bodies.

*Вклейка к ст. С. А. Филимоновой*

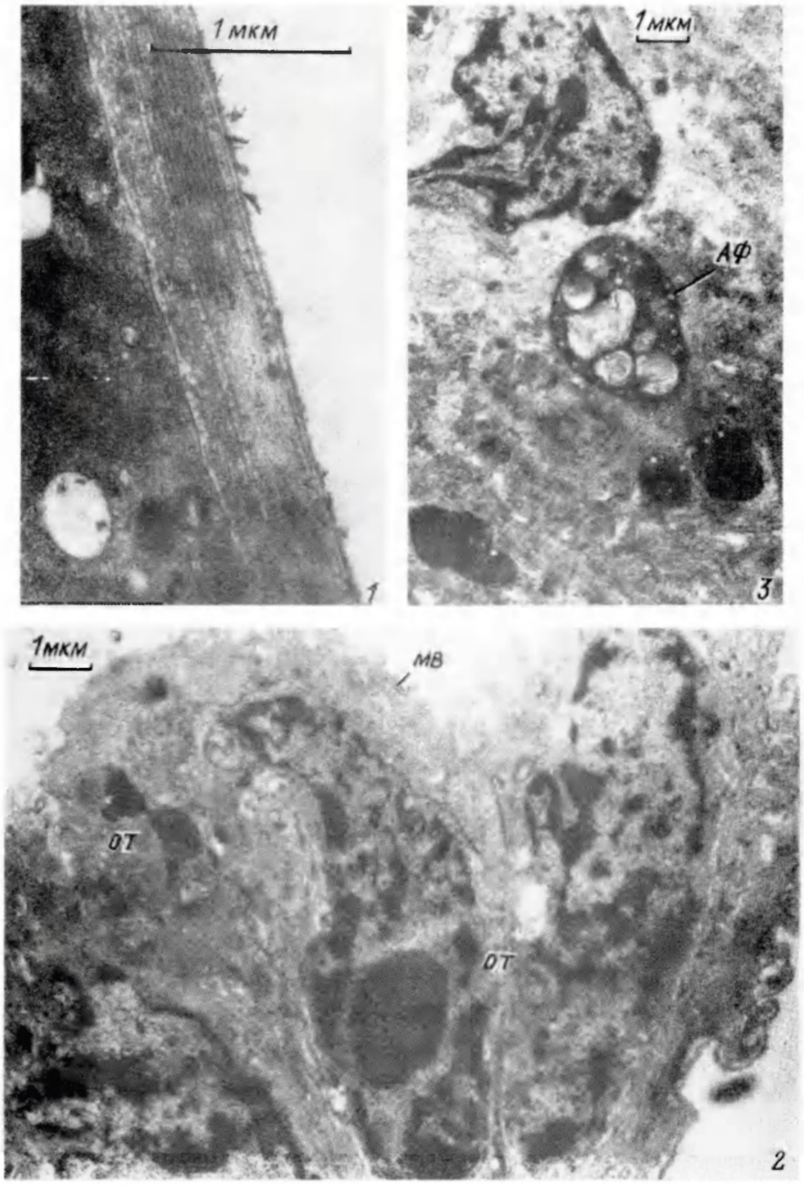

Рис. 2. Тонкое строение стенки овариолы и яйцевого мешка *S. calcitrans.*

*1* — стенка овариолы; *2* — эпителий яйцевого мешка через 1 ч после яйцекладки; *3* — процессы дегенерации в клетках яйцевого мешка через 10 ч после яйцекладки; *АФ* — аутофагическая вакуоль; *МВ* — микроворсинки; *ОТ* — остаточные тела.
Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

Fig. 2. Fine structure of ovariole and egg sack of *S. calcitrans.*

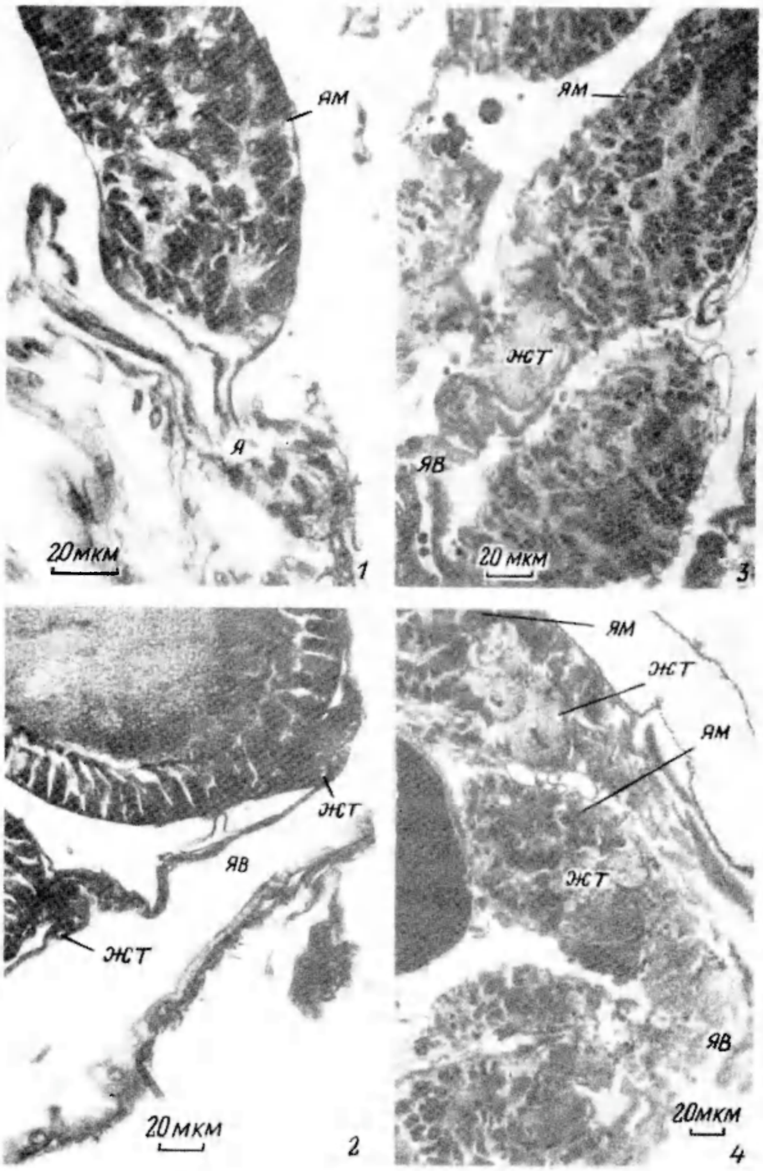

Рис. 3. Строение концевого отдела овариол у самок *S. calcitrans* разного физиологического возраста.

*1* — через 15 ч после I кладки; *2* — через 1.5 сут после I кладки; *3* — через 1 сут после II кладки; *4* — через 1 сут после IV кладки.
Обозначения те же, что на рис. 1.

Fig. 3. Structure of ovariles in females *S. calcitrans* of different physiological age.